

二甲双胍对 2 型糖尿病患者尿 TNF- α 排泄的影响

戴晓康, 叶山东*

(安徽医科大学附属省立医院内分泌科, 安徽 合肥 230001)

[摘要] **目的:**观察二甲双胍(metformin, Met)对 2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)患者尿肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 排泄的影响,探讨其可能的肾脏保护作用。**方法:**121 例 T2DM 患者(DM 组)根据抗糖尿病治疗方案分为胰岛素(insulin, INS)组和磺脲类(sulfonylurea, SU)组,再根据是否联合 Met 各分 2 个亚组(INS- I 组,INS 未联合 Met,INS- II, INS 联合 Met;SU- I 组,SU 未联合 Met,SU- II 组,SU 联合 Met),同期选择安徽医科大学附属省立医院体检中心 24 例健康体检人员作为正常对照组(NC 组),比较 DM 组和 NC 组及 DM 各亚组间空腹血浆葡萄糖(fasting blood glucose, FBG)、OGTT 试验 2 h 葡萄糖(postprandial blood glucose, PBG)、糖化血红蛋白 A1c(glycated haemoglobin A1c, HbA1c)、病程、体重指数、血压、血肌酐、尿白蛋白、尿 TNF- α 排泄的变化。**结果:**①DM 组 FBG、PBG、HbA1c、尿 TNF- α 肌酐比(urinary TNF- α /creatinine ratio, UTCR)、尿白蛋白肌酐比(urinary albumin/creatinine ratio, UACR)水平较 NC 组明显升高;②与 INS- I 组相比,INS- II 组 UTCR 和 UACR 明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);与 SU- I 组相比,SU- II 组 UTCR 和 UACR 明显降低($P < 0.05$);③T2DM 患者 UTCR 与 UACR 呈显著性正相关($r=0.73, P < 0.01$)。**结论:**Met 可减少 T2DM 患者尿 TNF- α 的排泄,该作用可能与其肾脏保护作用有关。

[关键词] 二甲双胍;2 型糖尿病;糖尿病肾脏疾病;TNF- α ;炎症因子;尿白蛋白

[中图分类号] R587.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2016)06-746-04

doi: 10.7655/NYDXBNS20160621

Effects of metformin treatment on urinary TNF- α excretion in type 2 diabetic patients

Dai Xiaokang, Ye Shandong*

(Department of Endocrinology, Anhui Provincial Hospital Affiliated to Anhui Medical University, Hefei 230001, China)

[Abstract] **Objective:**To observe the effects of metformin treatment on urinary TNF- α in type 2 diabetic patients and explore its possible reno-protective mechanisms. **Methods:**A total of 121 of type 2 patients (the DM group) were divided into the insulin group and the sulfonylurea group, they were divided to 2 subgroups according to whether or not they received metformin (the INS- I group, insulin only; the INS- II group, insulin +metformin; the SU- I group, sulfonylurea only; the SU- II group, sulfonylurea metformin). Meanwhile, 24 healthy subjects were selected as the normal control group (the NC group) so that FPG, PBG, HbA1c, duration, BMI, serum creatinine, urinary albumin/creatinine ratio (UACR) and urinary TNF- α /creatinine ratio (UTCR) were determined respectively between the NC group and the DM group and changes in them excretion were determined in subgroups. **Results:**1. In the DM group, the levels in FBG, PBG, HbA1c, UTCR and UACR were significantly higher than those in the NC Group. 2. Compared with the INS- I group, UTCR and UACR in the INS- II group were significantly decreased ($P < 0.05$); while compared with the SU- I group, UTCR and UACR in the SU- II group were significantly decreased ($P < 0.05$). 3. UTCR had significant positive correlation with UACR in patients with T2DM ($r=0.73, P < 0.01$). **Conclusion:**Metformin can reduce excretion of urinary TNF- α in type 2 diabetic patients, which may be associated with its renal protection.

[Key words] metformin; type 2 diabetes mellitus; diabetic kidney disease; TNF- α ; inflammatory factor; urinary albumin

[Acta Univ Med Nanjing, 2016, 36(06):746-749]

[基金项目] 安徽省自然科学基金(1508085SMH227);安徽高校省级自然科学基金项目(KJ2011A157)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: ysd196406@163.com

糖尿病肾脏疾病(diabetic kidney disease,DKD)作为糖尿病(diabetes mellitus,DM)患者常见的微血管并发症,是导致终末期肾衰竭乃至死亡的常见病因。近年来,大量研究表明炎症反应及细胞炎症因子分泌异常参与DKD的发生发展^[1],肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α ,TNF- α)是由单核巨噬细胞分泌的介导机体炎症反应的主要炎性细胞因子之一,有研究表明^[2],DM患者体内TNF- α 不同程度升高。二甲双胍(metformin, Met)作为2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)患者的首选用药,近年来一些研究显示其在降低血糖的同时对DKD也有一定益处,部分与其抗炎作用有关^[3]。本研究通过观察T2DM患者尿TNF- α 排泄水平的变化及横断面调查比较观察Met对T2DM患者尿TNF- α 排泄水平的影响,初步探讨其可能的肾脏保护机制。

1 对象和方法

1.1 对象

选取2014年6—12月于安徽医科大学附属省立医院内分泌专病门诊随访的T2DM患者121例,其中男61例,女60例,平均年龄(51.91 ± 1.49)岁,糖化血红蛋白(glycated haemoglobinA1c, HbA1c) < 9%,平均病程(5.14 ± 0.77)年, Met 疗程至少3个月,血压、血肌酐均在正常范围,尿白蛋白肌酐比(urinary albumin/creatinine ratio, UACR) < 300 mg/g,均嘱糖尿病饮食。DM组根据抗糖尿病治疗方案分为胰岛素(insulin, INS)组(60例)和磺脲类(sulfonylurea, SU)组(61例),再根据是否联合Met各分两个亚组。分别为:INS-I组(单一INS治疗,30例)和INS-II组(INS联合Met,30例);SU-I组(单一SU治疗,30例)和SU-II组(SU联合Met,31例)。同期选取体检中心24例健康体检人员为正常对照组(normal control, NC),其中男12例,女12例,平均年龄(51.67 ± 2.83)岁。排除标准:①患有严重心、肺、脑、肝脏疾病的患者;②合并严重急、慢性并发症;③对二甲双胍及磺脲类药物过敏或有不良反应者;④妊娠或哺乳期妇女。

盐酸二甲双胍片(批号48141004, 0.25 g/片,上海信谊药厂),TNF- α 试剂盒(R&D公司,美国),尿白蛋白、血葡萄糖、血尿肌酐测定试剂盒(浙江爱康生物科技有限公司)。Uhra2全自动糖化血红蛋白分析仪(Primus公司,美国),7600—020全自动生化分析仪(日立公司,日本),Biocell HT-1酶标仪(AN-

THOS公司,美国),BNII全自动血浆蛋白分析仪(Behring公司,德国)。

1.2 方法

1.2.1 标本收集

记录全部研究对象性别、年龄、病程、血肌酐(serum creatinine, SCr)、血压、身高、体重,计算体重指数(body mass index, BMI),均嘱避免高蛋白饮食。隔夜空腹8 h以上,次晨抽取静脉血测定空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)、OGTT试验2 h后血糖(postprandial blood glucose, PBG)和HbA1c,同时清晨用无菌培养管收集5 mL第1次中段尿, -80℃冰箱保存,待测尿肌酐(urinary creatinine, UCr)、尿白蛋白(urinary albumin, UAlb)及尿TNF- α 。

1.2.2 检测指标

己糖激酶法测定FPG、PBG,高压液相色谱法测定HbA1c,酶法测定SCr、UCr,免疫比浊法测定UAlb,酶联免疫吸附法测定尿TNF- α 。为减少研究对象尿量及浓度变化对测定结果的影响,尿TNF- α 和UAlb浓度分别采用尿TNF- α 肌酐比(urinary TNF- α /creatinine ratio, UTCR)和UACR表示。

1.3 统计学方法

应用SPSS19.0统计软件,数据以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,DM组和NC组之间数据分析、DM各亚组之间差异分析均应用独立样本 t 检验,数据的相关分析采用直线相关分析。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 DM组与NC组临床指标的比较

DM组与NC组相比,年龄、BMI、血压和SCr差异无统计学意义($P > 0.05$,表1),DM组FBG、PBG、HbA1c、UTCR、UACR水平较NC组明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$,表1)。

2.2 糖尿病各组一般资料比较

INS-I组与INS-II组相比,年龄、病程、BMI、血压、SCr、FBG、PBG和HbA1c差异无统计学意义($P > 0.05$);SU-I组与SU-II组相比,年龄、病程、BMI、血压、SCr、FBG、PBG和HbA1c差异无统计学意义($P > 0.05$,表2)。

2.3 糖尿病各组UTCR和UACR比较

与INS-I组比较,INS-II组UTCR和UACR明显减低,差异有统计学意义($P < 0.05$);与SU-I组比较,SU-II组UTCR和UACR明显减低,差异有统计学意义($P < 0.05$,表2)。

表 1 糖尿病组和正常对照组临床指标的比较

Table 1 Comparison of clinical indexes between the DM group and the NC group ($\bar{x} \pm s$)

指标	NC 组	DM 组
年龄(岁)	51.67 ± 2.83	51.91 ± 1.49
病程(年)	-	5.14 ± 0.77
BMI(kg/m ²)	22.26 ± 0.70	23.21 ± 0.48
SBP(mmHg)	128.60 ± 5.17	121.80 ± 2.39
DBP(mmHg)	74.33 ± 2.53	69.21 ± 1.29
SCr(μmol/L)	67.54 ± 2.65	71.07 ± 1.94
FBG(mmol/L)	4.85 ± 0.10	7.21 ± 0.14*
PBG(mmol/L)	5.24 ± 0.22	9.71 ± 0.31*
HbA1c(%)	5.22 ± 0.06	7.03 ± 0.10*
UACR(mg/g)	13.63 ± 1.03	27.68 ± 3.99*
UTCR(ng/mg)	60.23 ± 12.27	152.00 ± 34.43*

与 NC 组比较, * $P < 0.05$ 。

表 2 Met 干预治疗组与未应用 Met 干预治疗组间比较

Table 2 Comparison of two subgroups combine with or without metformin

($\bar{x} \pm s$)

指标	INS 组		SU 组	
	I 组	II 组	I 组	II 组
年龄(岁)	49.73 ± 4.06	51.73 ± 2.94	56.30 ± 2.96	54.20 ± 3.03
病程(年)	4.11 ± 1.00	4.73 ± 0.97	4.36 ± 1.10	3.20 ± 1.17
BMI(kg/m ²)	23.67 ± 1.34	23.89 ± 1.08	22.01 ± 1.05	23.48 ± 1.05
SBP(mmHg)	125.90 ± 6.07	117.30 ± 5.45	116.70 ± 4.41	120.70 ± 5.36
DBP(mmHg)	73.09 ± 3.81	66.36 ± 2.47	66.50 ± 2.00	71.60 ± 3.03
SCr(μmol/L)	70.91 ± 3.79	69.35 ± 4.53	65.20 ± 3.77	65.60 ± 4.84
FBG(mmol/L)	7.08 ± 0.42	7.24 ± 0.19	7.25 ± 0.34	6.97 ± 0.26
PBG(mmol/L)	11.05 ± 0.86	10.27 ± 0.84	8.94 ± 0.53	8.92 ± 0.55
HbA1c(%)	7.23 ± 0.16	7.04 ± 0.29	7.10 ± 0.33	7.09 ± 0.19
UACR(mg/g)	42.96 ± 6.24	10.48 ± 1.98*	52.43 ± 7.80	18.31 ± 5.70 [#]
UTCR(ng/mg)	166.90 ± 44.04	51.12 ± 9.56*	110.40 ± 14.27	62.14 ± 7.38 [#]

与 INS-I 组比较, * $P < 0.05$; 与 SU-I 组比较, [#] $P < 0.05$ 。

细胞聚集与黏附,使微血管通透性增加,进而诱发炎症反应。Luis-Rodríguez 等^[7]研究表明致炎因子 TNF-α、白细胞介素(interleukin, IL)-6 等可通过介导单核巨噬细胞的黏附趋化等过程在 DKD 病变早期起重要作用,并与蛋白尿、肾小管间质损伤及肾脏病变进展有关。最近研究表明^[8],炎症因子 TNF-α 可能是 DKD 患者体内的独立危险因素。UACR 是反映肾小球受损的敏感指标^[9],UACR < 30 mg/g、30~300 mg/g、≥ 300 mg/g 分别定义为正常、微量白蛋白尿和大量蛋白尿。本研究结果表明 T2DM 患者尿 TNF-α 排泄明显增加,并与 UACR 呈显著正相关,提示 T2DM 患者肾脏局部存在增强的炎症状态,且增高的 TNF-α 可能参与糖尿病肾脏损伤,与之前文献报道一致^[7-10]。

Met 作为抗糖尿病治疗的一线用药,近年来一些研究显示其除降低血糖外,尚有一定抗炎作用并

2.4 相关性分析

以 UACR 作为应变量,以 TNF-α 作为自变量进行直线相关性分析,结果显示 T2DM 患者 TNF-α 与 UACR 呈显著性正相关($r=0.73, P < 0.01$)。

3 讨论

近年来炎症因子在 DKD 的发生和发展中备受关注,并认为 DKD 是一种慢性炎症性疾病^[4-5]。DKD 患者体内急性时相蛋白如 TNF-α 和单核细胞趋化因子(monocyte chemotactic protein, MCP)-1、C 反应蛋白水平等明显升高,且这些升高的炎症蛋白水平随着蛋白尿的增加而增加^[2,5-6]。其中, TNF-α 主要由活化的巨噬细胞和一些肿瘤细胞合成,其参与了机体免疫功能、细胞凋亡等功能调节并可以促进炎症

可能对 T2DM 患者肾脏损害提供保护^[11-12]。Krysiak 等^[13]研究表明, Met 可以抑制单核细胞分泌炎症因子如 TNF-α、IL-6、IL-8 等,降低全身炎症反应,同时改善胰岛素敏感性。Louro 等^[3]分别给予大鼠 Met、格列齐特和胰岛素治疗,发现 Met 在降低血糖同时,明显降低了血 TNF-α 等炎症因子水平,改善了肾功能,减轻了肾小球纤维化及肾脏足细胞融合。本研究结果显示,胰岛素和磺酰脲类联合 Met 组与单一胰岛素和磺酰脲类药物组比较,在血糖控制相似的情况下,尿 TNF-α 排泄明显降低,提示联合组尿 TNF-α 排泄的降低可能与 Met 的使用有关。有关 Met 抑制体内 TNF-α 的机制尚不清楚, Ouyang 等^[14]研究表明, Met 可抑制线粒体呼吸链复合物进而减少三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)的产生,增加一磷酸腺苷(adenosine monophosphate, AMP)/ATP 比值、抑制 AMP 脱氨酶、减少 AMP

的清除,从而激活腺苷酸活化蛋白激酶(adenosine monophosphate-activated protein kinase,AMPK),抑制炎症反应。二甲双胍激活 AMPK 后,还可以通过抑制内皮细胞增生,降低哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin,mTOR)的活性及 mRNA 和蛋白的合成来发挥抗炎作用。Alhaider 等^[15]在转录水平证实二甲双胍可显著恢复氧化应激相关基因的表达,并抑制 TNF- α 和 IL-6 等促炎基因的表达和分泌,发挥对糖尿病大鼠肾脏的保护作用。

综上,本研究结果初步显示 Met 可减少 T2DM 患者尿 TNF- α 的排泄,该作用可能与其肾脏保护有关,确切机制有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] Duran-Salgado MB,Rubio-Guerra AF. Diabetic nephropathy and inflammation[J]. World J Diabetes,2014,5(3):393-398
- [2] Niewczas MA,Ficociello LH,Johnson AC,et al. Serum concentrations of markers of TNF α and Fas-mediated pathways and renal function in nonproteinuric patients with type 1 diabetes[J]. Clin J Am Soc Nephrol,2009,4(1):62-70
- [3] Louro TM,Matafome PN,Nunes EC,et al. Insulin and metformin may prevent renal injury in young type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats[J]. Eur J Pharmacol,2011,653(1/3):89-94
- [4] 邹和群,刘新宇. 炎症与糖尿病肾病[J]. 内科急危重症杂志,2014,20(4):217-219
- [5] 王秋月,陈芬琴,马小羽,等. 2 型糖尿病患者血中炎症因子、尿 MCP-1 与尿白蛋白排泄率的关系[J]. 中华内分泌代谢杂志,2010,26(5):391-392
- [6] 陈 玮,殷 荔,缪爱梅,等. 促炎性细胞因子对大鼠胰岛 β 细胞 miR-29 家族及抗凋亡蛋白表达水平的影响[J]. 南京医科大学学报(自然科学版),2015,35(6):787-792
- [7] Luis-Rodríguez D,Martínez-Castelao A,Górriz JL,et al. Pathophysiological role and therapeutic implications of inflammation in diabetic nephropathy[J]. World J Diabetes,2012,3(1):7-18
- [8] Yeo ES,Hwang JY,Park JE,et al. Tumor necrosis factor (TNF-alpha) and C-reactive protein (CRP) are positively associated with the risk of chronic kidney disease in patients with type 2 diabetes[J]. Yonsei Med J,2010,51(4):519-525
- [9] Johnson DW,Jones GR,Mathew TH,et al. Chronic kidney disease and measurement of albuminuria or proteinuria:a position statement [J]. Med J Aust,2012,197(4):224-225
- [10] 王星云,朱 剑,蒋兰兰,等. 过表达 Sirt1 对高糖诱导的人肾小球系膜细胞增殖与 TGF- β 1 表达的影响[J]. 南京医科大学学报(自然科学版),2015,35(4):480-484,509
- [11] 陈 森,娄 宁,陈福莲. 二甲双胍对糖尿病肾病患者肾功能的影响[J]. 南京医科大学学报(自然科学版),2010,30(1):70-78
- [12] 顾俊菲,叶山东,汪 珊,等. 二甲双胍对大鼠肾小球系膜细胞 NF- κ B,ICAM-1 表达的影响[J]. 南京医科大学学报(自然科学版),2014,34(5):607-610
- [13] Krysiak R,Okopien B. The effect of metformin on monocyte secretory function in simvastatin-treated patients with impaired fasting glucose [J]. Metabolism,2013,62(1):39-43
- [14] Ouyang J,Parakhia RA,Ochs RS. Metformin activates AMP kinase through inhibition of AMP deaminase[J]. J Biol Chem,2011,286(1):1-11
- [15] Alhaider AA,Korashy HM,Sayed-Ahmed MM,et al. Metformin attenuates streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats through modulation of oxidative stress genes expression[J]. Chem Biol Interact,2011,192(3):233-242

[收稿日期] 2015-09-24